

SZEMLE

A talajenzimológia eredményeinek kritikai összefoglalása*

A talajbiológiai vizsgálatok egyik legfontosabb — a mezőgazdasági gyakorlathoz szorosan kapcsolódó — problémája olyan módszerek kidolgozása, melyek segítségével felvilágosítást nyújthatunk a talajok biológiai cselekvőképességéről és ennek révén bizonyos mértékig, termőerejük fokáról is. A talajok biológiai aktivitásának kimutatására alkalmas módszerek között leginkább elterjedtek azok, melyek közvetett úton, így pl. a talajlégzés mérésével, vagyis a talaj szén-savtermelése megállapításával következtetnek a talajban élő lebontó szervezetek munkásságára és tevékenységük intenzitására. A talajlégzés-vizsgálatok — amint azt F e h é r több évtizedes tanulmányai [6–12] is igazolták — értékes útmutatással szolgálnak talajaink életjelenségeire, sőt magára a termőképességekre vonatkozóan is. Újabban egyre inkább erőssé válik az a törekvés, hogy laboratóriumi körülmények között a behozott talajpróbák kémiai és fizikai viszonyaiban végbemenő átalakulások mérésével, tanulmányozásával nyerjünk támpontokat a talaj termőerejének dinamikai állapotára. E problémával kapcsolatban értékes módszereket dolgozott ki a soproni talajbiológiai iskola a mikroszervezetek által a talaj biokémiai és biofizikai állapotán létrehozott változások tanulmányozásával. Az utóbbi néhány esztendőben pedig módszerek, eljárások születtek, melyek segítségével lehetőség nyílik a talajok enzimatisz aktivitásának kimutatására. Ezen vizsgálatok során sikerült a különböző talajokban, a mikrobiális aktivitással többé-kevésbé összefüggően számos enzim jelenlétét kimutatniuk, így kataláz, szaharáz, amiláz, maltáz, α - és β -galaktozidáz, α - és β -glukozidáz, fitáz, stb. fermenteket.

A talajenzimológia szakterületére eső kutatások egyre nagyobb mérvű kibontakozása szükségessé teszi a már eddig elért eredmények kritikai összefoglalását, amely feltétlenül kívánatos néhány idevonatkozó megállapítás és elköpzelés helyes értékelése szempontjából.

A talajok enzimtartalmának eredetéről

Korábban már többen foglalkoztak [33, 34, 53, 59, 60 stb.] azzal a jelenséggel, hogy a hidrogénperoxidot a különböző talajok eltérő intenzitással vízzé és oxigénné képesek elbontani. Így a talajok katalitikus erejének mértékéül szolgált az az oxigén mennyiség, amely a talajnak hidrogénperoxiddal történő összerázásánál fejlődött [26]. A talajok ezen tulajdonságát megkísérelték párhuzamba állítani a termőképességgel. Hogy e kísérletek valóban bizonyos összefüggéseket tudtak kimutatni, arra nézve álljanak itt a következő adatok (R i p p e l [50] Waksman után). Ha a trágyázatlan talajnál tapasztalt oxigénképződést 100-nak és a terméshozamot ugyancsak 100-nak vették kiinduló alapul, úgy nitrogénmentes műtrágyázás esetén az első 87, a második 865, NaNO_3 -al egybekapcsolt műtrágyázásnál 159, ill. 1605, végül a műtrágyának istállótrágyával történt együttes alkalmazása esetén 238, ill. 1860 volt az oxigénképződés, ill. a terméshozam mértékének számszerű értéke. Vagyis az utolsó két esetben bizonyos párhuzamot lehet felismerni, azonban a nitrogénmentes műtrágyázásnál, jóllehet a terméseredmény sokszorosan megemelkedett, az oxigénfejlődés mértéke csökkent.

Azonban a talajok azon képességét, hogy a hidrogénperoxidot megbontják, nem írhatjuk kizárólag a talajlakó mikrobák kataláz fermentjeinek számlájára. Ugyanis a megbontásért a talaj anorganikus alkatelemei, így elsősorban mangán és vasvegyületek is felelőssé tehetők. Így pl. S c h a r r e r [53] azt találta, hogy bár az izzítás a talaj katalitikus erejét nagyon erősen leszállítja, teljesen meg nem szünteti, sőt bizonyos esetekben, mint vasban gazdag lápi talajoknál még az izzítás után is alig változik. K u p r e v i c s [39] azon megállapításával kapcsolatban, hogy a talajkataláz aktivitásának meghatározása révén kielégítő képet nyerhetünk a biológiai folyamatok intenzitásáról F j o d o r o v [15] a fenti tényekre hivatkozva pontosabb módszerek bevezetését tartja

*Előadás a M. T. A. soproni Talajbiológiai Kutató Laboratóriuma 1954. május 10-i vitáján.

szükségesnek. Jacob szerint [26] az »egészséges talajok« katalitikus ereje — egyébként azonos tulajdonságok mellett — nagyobb, mint a »beteg talajoké«. A katalitikus erőnek ez a csökkenése azzal kapcsolatos, hogy a »beteg talajoknak« általában nagyobb az oldási tendenciája a mangán és vasvegyületek irányába, s ezek csak oxidok vagy karbonátok alakjában hatnak katalitikusan, oldott állapotban azonban nem.

Mindezekből látható, hogy a talajok kataláz aktivitása nem tükrözi vissza kielégítően a termékenység szempontjából olyannyira fontos mikrobiális folyamatok dinamikáját. Az utóbbi időben több kutatónak (Kuprevics, Hofmann, Seegerer, stb.) főleg különböző hidrolázok kimutatására irányuló kísérletei már megbízhatóbb eredményekre vezettek. Ezek során bebizonyosodott, hogy a talajok enzimatartalma, — legalább is aszaharáz, ureáz, amiláz stb. fermentekre nézve — igen magas lehet, úgyhogy a szokásos enzimekémiai módszerekkel kimutathatók. Behatóbb vizsgálatok meggyőzték a talajok ilyen hatóanyagok valóban enzimatisz karakteréről is. Így a talaj hatására bekövetkező nádcukor hidrolízist enzimatisz természetűnek kell tartanunk [19—23, 55 stb.] mivel: 1. Az olyan talaj, melyet autoklávban vagy szárítószekrényben sterilizáltak, nem tanúsít nádcukor bontást. Ez az enzimfehérjék hővel szembeni érzékenysége, ill. a magas hőmérsékleten bekövetkező pusztulásával kapcsolatos. 2. A talaj szaharáz aktivitása a talajmélységgel rohamosan csökken és a mikrobák által sűrűn lakott régiókban a legmagasabb. Ez a tény az aktivitás — a cukor bontás — eredendő okára utal, vagyis a mikroorganizmusokra, melyek protoplazmája a megfelelő enzimek szintézisét végzi. 3. A talaj jelenlétében bekövetkező nádcukor hidrolízis mértéke azon pH-értéknél a legmagasabb, amely többé-kevésbé megfelel a talajélőlények szaharáz fermentjei pH optimumának. 4. A hidrolízis fermentatív mivoltára utal a fermentreakció sebességének függése a szubsztatkonzentrációtól. Így a bontás sebessége a szubsztat koncentrációjának fokozódásával egy bizonyos értékig emelkedik, majd a ferment szubsztattal való telítése után a reakciósebesség az utóbbi-tól már független lesz. A talajok hidrolitikus hatásának enzimtermészetét a kutatók egész sora erősítette meg [35, 37, 38, 39, 57 stb.].

Minthogy ezidőig már számos enzim jelenlétét sikerült a különböző talajokból kimutatni, felmerül a kérdés, vajon miféle talajszervezetektől nyerték ezek eredetüket. Targyaljuk meg a lehetőségeket:

1. A magasabbrendű növények gyökérrendszere útján leadott enzimek: Ezzel a növényfiziológiai szempontból is rendkívül érdekes problémával nemrég Kuprevics [37, továbbá 38, 39] foglalkozott. Megállapítása szerint a magasabbrendű autotrof növények

képesek a gyökérszőrökön keresztül leadott extracelluláris fermentek segítségével [kataláz, tirozináz, aszparagináz, ureáz, amiláz, invertáz, lipáz, proteáz, celluláz (!)] a talaj különböző organikus szubsztatumaikra hatást gyakorolni. Nagy kísérleti anyagon végzett tanulmányok (*Pinus silvestris*, *Picea excelsa*, *Populus tremula*, *Vicia faba*, *Acer platanoides*, *Taraxacum officinale* stb.) arra a megállapításra készítették a szerzőt, hogy a heterotrof táplálkozásnak ez a formája szélesen elterjedt lehet a növények világában. Bár az ezen irányú vizsgálatok, a nagy módszertani nehézségeket tekintve, továbbá az idevonatkozó fenti megállapítások még igen sok kívánnivalót hagynak maguk után, mégis meg kell állapítanunk, hogy a talajenzimológiai kutatások során — bizonyos körülmények között — a gyökéreffektust nem hagyhatjuk figyelmen kívül. A gyökéredetű talajfermentek jelenlétére nemrég Misusztin [45] is felhívta a figyelmet.

2. A talajba került állati és növényi szövetek autolízisének szabaddá váló fermentekkel is számolnunk kell. Ezek belsejében a bomlás kezdetben mikroorganizmusok részvétele nélkül a saját enzimeik hatására indul meg. Uhtomskaja szerint [57] ezen fermentek azután fokozhatják a talaj egyéb eltérő eredetű fermenthatásának erősségét.

3. A talajban vagy a talajon élő állatok ürülékével együtt emésztőfermentek maradványai is kerülhetnek a termőföldbe [57].

4. Végül a legfontosabb a mikroflóra (és fauna) enzimek szete. A mikroorganizmusok anyagszerájére vonatkozó rendkívül gazdag vizsgálatok már korábban meggyőzték arról, hogy ezek — s így a talajmikrobák is — a legkülönbözőbb fermentekben igen gazdagok. Így pl. az *Aspergillus* fajok közül álljon itt példaként az *Aspergillus oryzae*, melyből a lipáz, szulfatáz, fitáz, glicerofoszfátáz, foszfor-eszteráz, foszfátáz, glukozidáz, galaktozidáz, szaharáz, maltáz, laktáz, inuláz, pektináz, lichenáz, nukleáz, amidáz, proteáz stb. fermentek ismeretesek [16]. Hasonlóan gazdagok fermentekben a sugárgombák és a baktériumok is.

A talaj fermentaktivitásának vizsgálatánál egyrészt nemcsak az ún. ektoenzimek hatását mutatjuk ki, másrészt pedig nemcsak a pillanatnyilag élt mikroorganizmusok enzimek szetével kell számolnunk. A baktériumok életideje ugyanis rövid, s auto vagy heterolízisnek lehetnek alávetve, amikor fermentumaik szabaddá válnak és a talaj kolloidális komplexumában adszorbeálódva felhalmozódhatnak [18—25, 35, 38, 56 stb.]. Természetesen a felhalmozódott fermentek mennyiségi és minőségi viszonyai igen erősen függenek az eredeti mikroflóra összetételétől. Így pl. a gombák több fitázt produkálhatnak, mint a baktériumok [28], a talajkataláz eredete inkább gombákkal, algákkal hozható viszonyba [38], bár mint ismeretes, a baktériumok körében szélesen elterjedt.

A talajfermentek inkább a maximális aktivitásukhoz igényelt optimális feltételekkel kapcsolatban tükrözik vissza a legkarakterisztikusabban heterogén eredetüket. Egy alacsonyabb pH optimum mellett fejtik ki aktivitásukat a gomba eredetű »talaj-szaharázók«, mint a baktériumoktól származók (Hofmann stb.). Ezek a tények a fermentkémiában már ismeretes azon szoros összefüggésekre utalnak, melyek a fermentek természete és előfordulásuk élettani körülményei között fennállanak.

Módszerek

A talajok különböző enzimekre vonatkoztatott aktivitásának meghatározása lényegében azon alapszik, hogy a vizsgálati talajmintát a plazmolízis után a kérdéses szubsztátummal hozzuk össze és megállapítjuk a bontás mértékét. Ennek értelmében a talajmintákat először toluollal kezelik, majd a vizsgálandó enzim aktivitásának leginkább megfelelő pH értékre beállított puffer oldattal (ecetsav-dinatrium-foszfát-puffer, foszfát-puffer stb.), továbbá a bontandó szubsztátummal (a szaharáz esetében nádcukor oldattal, az ureáz esetében karbamid oldattal, a fitáz aktivitásának meghatározásánál Na-fitát oldattal [28], az α - és β -glykozidázok esetében β -, ill. α -phenol-d-galaktoziddal, ill. β - vagy α -phenol-d-glukoziddal avagy arbutinnal (β -glukosido-hydrochinon) [25] látják el.

Az inkubációt az enzimaktivitáshoz szükséges optimális hőmérséklet mellett — természetében — hajtják végre, majd egy bizonyos idő elteltével meghatározzák a bontás mértékét. Így a fitáz aktivitást azon anorganikus foszfor mennyiségének meghatározása révén állapítják meg, amely ugyanazon talajnak Na-fitáttal kezelt és kontrol mintái között különbségként mutatkozott. Az ureáz aktivitás mérése a 10%-os karbamid oldatból képződő NH_3 meghatározásán alapul. A szaharáz aktivitás mérése esetén a 20%-os nádcukor oldatból képződő redukáló cukrot jodometrikusan határozzák meg. Újabban Hofmann és Niggemann [25/a] a talajok proteínáz aktivitását a hővel kezelt és kezeletlen talajmintáknak a zselatin elfolyósítását előidéző aktivitásának, ill. gyorsaságának időegységben kifejezett különbségével mérik, stb.

A talajok enzimatisz aktivitását befolyásoló tényezők

A következőkben pontokba foglalva tárgyaljuk meg azokat a tényezőket, amelyek befolyásolják a talajenzimeknek a természetes körülmények között végbemenő felhalmozódását, vagyis a talaj enzimatisz aktivitásának ki-

alakulását, a szabad enzimek működéskifejtését, és amelyek korlátozzák a mi munkánkat az aktivitás meghatározásával kapcsolatban.

1. *A talajadszorpció:* A talaj-szaharáz enzimre vonatkozó vizsgálatok arra az eredményre vezettek, hogy a szabad enzimek nagymértékű felhalmozódása következhet be azáltal, hogy ezek a talaj kolloidális komplexumban adszorbeálódhatnak. Módszertani szempontból ez a tény azért is fontos, mert a felhalmozódás fokozza a fermentreakció pontosságát és erősségét [21]. Az enzimeknek a talajban bekövetkező adszorpciójának a bizonyítására Hofmann és Seegerer a következő kísérletet hajtották végre: Élesztőből plazmolízis, majd centrifugálás útján szaharázban gazdag kivonatot állítottak elő, ezt nagyobb mélységből nyert minimális biológiai aktivitású agyagtalajjal hozták össze. Egy idő után a talajt többször mosták és centrifugálták, de ez ennek ellenére rendkívül gazdagnak mutatkozott szaharázban, ami az erős adszorpció viszonyokra enged következtetni. Ezután kiszárították, és a kísérlet után még hat hónappal is aktívnak bizonyult.

Azonban az adszorpció nemcsak a felhalmozódást segítheti elő, hanem hathatósan befolyásolhatja magát az enzimaktivitást is. Mortland és Gieseking [47] megállapításai szerint, a fitáz, fruktozidifoszfátáz, lecitináz és a glicerofoszfátáz enzimatisz aktivitását, vagyis a megfelelő szerves foszforvegyületek katalitikus hidrolízisét az agyagok tetemesen gátolhatják, ezen gátlás pedig az agyagok báziscserélő képességével tart párhuzamot, ami arra enged következtetni, hogy az agyag az enzimeket mint kationokat legalább is részben adszorbeálhatja. Mortland és Gieseking tanulmányai szerint ezen gátlás az agyagnak az enzimekre gyakorolt hatásával kapcsolatos és nem a szerves foszforvegyületeknek az agyagon való adszorpciójával magyarázható. Az adszorpció útján bekövetkező hatásvesztés lehetőségeire más szerzők is rámutattak [1, 28].

Mindemellett megállapíthatjuk, hogy ma még nagyon keveset tudunk arról, hogy vajon a talaj adszorpció komplexumában fogvatartott enzimek miként és milyen mértékben fejthetnek ki tevékenységet.

2. *Hidrogénionkoncentráció:* Mint tudjuk, a legtöbb esetben a fermentek optimális működése bizonyos pH értékhez van kötve s ennél lúgosabb vagy savanyúbb irányban az aktivitás gyorsan csökken. Scheffer és Twachtman [54] két kerti és két szántóföldi talaj szaharáz és ureáz aktivitásának meghatározásánál különböző pH értékre beállított pufferoldatokkal dolgoztak. Ezek a meghatározások egybehangzóan azt mutatták, hogy a »talajenzimeknek« nincsen pH optimumuk. Ezt a jelenséget a talajenzimkomplexum heterogén eredetű, s így igen eltérő pH optimumokkal rendelkező ferment összetételével magyarázzák:

Valóban az optimális pH-érték ezen vizsgálatoknál csak átlagosan adható meg a »talaj-enzimkomplexusára« mint összességre vonatkoztatva, s így bizonyos megszorításokkal mégis csak beszélhetünk pl. a gomba vagy akár a baktérium eredetű enzimek pH optimumáról. Így Hofmann szerint [21] a talajok szaharáz aktivitásánál két pH optimumot figyelhetünk meg. Az aktivitási görbén az egyik optimum a penészgombák fermentjeinek felel meg, míg a másik a baktériumok és a sugárgombák fermentjeinek. pH 5 körül az első és pH 6 körül van a második. A két csúcs között gyakran esés tapasztalható, bár a talaj természete szerint ez el is maradhat. Ha most megdobjuk, hogy a természetes talajokban a gombák, továbbá a baktériumok és sugárgombák aránya igen erősen függ a fizikokémiai viszonyoktól, így a pH-tól is, úgy érthetővé válik, hogy a savanyú talajokban miért tolódik el a szaharáz aktivitás optimauma az alacsonyabb pH értékek felé és a közömbös talajokban a neutrális felé. Mint ismeretes, a gombák inkább az alacsonyabb pH értékek felé tevékenykednek. De lássunk néhány példát arra nézve, hogy az egyes mikrobáknál milyen különbségek mutatkoznak pl. a szaharázuk pH optimumában. Euler szerint [54] a gombáknál pH 4 és 5 között, Kursanov különböző *Aspergillus niger* törzseknél pH 2,5–4,0 között, Hofmann az *Aspergillus oryzae*-nél pH 3,9-nél, az *Actinomyces*-ek szaharáz aktivitásának optimumát pedig pH 6,1-nél állapították meg. A baktériumoknál pH 7 körül.

Seggerer kísérlet sorozatot indított [56] különböző talajokkal eltérő pH-értékek mellett (pH 3,19–5,6-ig ecetsav-nátriumacetát puffer és pH 6,1-től pH 8,0-ig foszfátpuffer segítségével) a szaharáz aktivitás meghatározására. Megállapítása szerint a szaharóz (nádcukor) bontás optimuma pH 4,7 és pH 6,1 között mozgott. Csak szélsőségesen savanyú talajok esetében alacsonyabb az optimum (pl. a talaj pH: 4,0, ekkor az opt. aktivitás pH. 3,8-nál). Ez megint csak a gombacsoportú enzimek jelenlétére utal. A többi talaj esetében a gomba és bakteriális eredetű enzimekkel egyaránt számolni lehetett.

A talaj pH-át, mint láttuk, befolyásolja a mikroflóra összetételét s ezen keresztül a talajfermentek mennyiségi és minőségi viszonyait. Így alacsony pH értékek mellett tapasztalt magas fitáz aktivitás — a kísérletek tanúsága szerint — a gombák fokozott fitáz produkciójával hozható vonatkozásba [28].

Végül néhány szót kell szólni a meghatározásoknál felhasznált pufferekről. A szaharáz aktivitás meghatározásoknál leginkább bevált 1 M koncentrációjú ecetsav-dinátriumfoszfát pufferkeverék (1:1, pH: 5,5) 10 ml-e, 20 g talajra kielégítő kapacitásának bizonyult [id: 56]. CaCO_3 -ban gazdag talajok esetében Bräunlich [2] 10 g talajra fenti pufferkeverékből 50 ml-t alkalmazott.

Arra a hibaforrásra, mely a pufferoldat által előidézett cukorhidrolízis folytán állhat elő, több szerző is rámutatott.

3. A talajt borító növénytakaró befolyása: A növénytakaró lényegesen befolyásolhatja a mikroflóra összetételét, tevékenységének intenzitását. Ez hatásában megnyilvánulhat az enzimaktivitásban is. Az erre vonatkozó vizsgálatok tanúsága szerint [54] jelentős szerepet játszhat a különböző növényi eredetű organikus anyagok jelenléte, a gyökérzet fejlettségi viszonyai, pl. a szaharáz aktivitás alakulásánál. Egy ilyen vizsgálati sorozat keretében a legnagyobb aktivitást lóbab és burgonya alól, alacsonyabbat mák és répa alól származó talajok esetében észleltek. Érdekesebb Kuprevics adatai is [38], aki különböző talajok, továbbá az árpa gyökereinek extracelluláris fermentaktivitását tanulmányozta. Megállapításai szerint az árpa kultúrája alól származó kimosott folyami homok viszonylag alacsony ureáz és igen gyenge kataláz aktivitást mutatott, fenoláz, invertáz, amiláz és proteáz jelenlétét nem tudta kimutatni. Az intézetük udvarából származó virágágy talaja fokozott ureáz aktivitást és a kataláz mellett még kimutatható fenoláz és invertáz tevékenységet tanúsított. Lényegében hasonló eredményeket kapott kertész-földdel is, bár itt az ureáz és kataláz aktivitás még magasabb volt. Ezzel szemben a tavaszi-árpa gyökereinek extracelluláris fermentjei között a kataláz, invertáz és amiláz magas aktivitással, a proteáz, jól kimutathatóan az ureáz és tirozináz fermenteket pedig igen gyenge hatással észlelte, míg a fenoláz és aszparagináz jelenlétét nem tapasztalta.

Végeredményben a növények gyökérrendszerükön keresztül a talajok enzimaktivitását a következő úton-módon befolyásolhatják: 1. A gyökérzet fejlettségének mértékével a talaj mikrobiális aktivitását a fokozott rizoszféra effektuson keresztül serkenthetik, ami az enzimek nagymérvű mikrobiális szintéziséhez vezet. 2. A gyökérrendszeren keresztül, mint arról már szó volt, a növény esetleg adhat le ektoenzimeket. 3. a sérült, pusztulásnak induló gyökérszövetek autolízise útján is gyarapodhatnak enzimekben a talaj és végül 4. A növényi maradványok, így elhalt gyökérrészek, stb. a lebontó folyamatok megindításával fokozzák a mikrobák aktivitását s így az enzimek képződését.

4. Az időjárás: Hasonlóan az időjárás is egyrészt a mikrobiális tevékenységre gyakorolt hatásával másrészt a talaj fizikai és kémiai állapotának megváltoztatásával befolyásolhatja az enzimaktivitást. Itt mindenekelőtt a mikrobiális populációk legfontosabb regulátorainak, az időjárással kapcsolatot tartó talajhőmérsékletnek és nedvességnek az R-törvény értelmében vett (Fehér [12]) komplex hatása, összefüggésben a mindenkori szervesanyag tar-

talommal az irányadó. Azonban nem valószínű, hogy az enzim módszerekkel, legalábbis a szaharáz esetében, igen rövid időközökben lezajló időjárási ingadozásokat ki tudjunk mutatni [30], mivelhogy a magasabb mikroba-tevékenység idején képződött fermentek a talajban — mint már arról szó volt — hosszabb-rövidebb ideig aktív formában akumulálódhatnak.

5. *Hőmérséklet és nedvességtartalom*: Ezen faktorokat az imént már érintettük az időjárásnak a talajéletre gyakorolt komplex hatása keretében. Jelentőségük az enzimaktivitások meghatározásánál két téren jelentkezik: 1. A talajminták előkészítése és raktározása. Az enzimek fehérje természetével függ össze, hogy a terepről behozott talajok gyors, különösen magas hőmérsékleten történő szárítása tetemes aktivitás veszteséssel járhat. Még a szobahőmérsékleten történő szárítás mellett is tapasztalható bizonyos mértékű csökkenés, mely egy idő után megállapodik. Előfordulhat, hogy a kedvezőtlen körülmények közül behozott talajmintában a szobahő hatására gyors mikroba szaporodás indul meg, ami zavarólag hathat. Ezt elkerülhetjük, ha a mintavétel alkalmával azokat plazmolitikummal azonnal eldörzsöljük, s utána szárítunk. Jackman és Black a fitázaktivitást is legmagasabbnak akkor találták, ha még nedves talajjal dolgoztak. Mindenesetre a kísérleti adatok szerint a szobahőn történő szárítást az ureáz, szaharáz meghatározásoknál nyugodtan alkalmazhatjuk, mivel légszáraz állapotban is a kérdéses talajra jellemző mértékű aktivitás heteken át megőrzést nyerhet. Rendkívül fontos tény, s különösen a természetes talajokban végbemenő televényképződés szempontjából érdemel fokozott figyelmet az, hogy az enzimek a talajban hatékonyak lehetnek olyan nedvességtartalom mellett is, amely már a mikroorganizmusok számára nem hozzáférhető (Miszutin [45]). Erre utalnak Enikeeva [5] vizsgálatai is. 2. A maximális aktivitás kifejtéséhez szükséges optimális hőmérséklet megválasztása. A szaharáz meghatározásoknál Seegerer [56] a költőszekrény hőmérsékletét 37 °C-ra állította be, Kuprevics a kataláz, tirozináz, fenoláz, aszparagináz, ureáz, invertáz, amiláz és proteáz meghatározásoknál 30 °C-ra [38]. Hofmann a szaharáz kimutatásánál 37 °C [21], Jackman és Black a fitáz aktivitás vizsgálatánál 45 °C hőmérsékletet tartottak megfelelőnek [28] stb. Fő szempont még az enzimekárosodás elkerülése.

Végül meg kell jegyezni, hogy a talajminták szárítása alkalmával észlelt enzimkárosodás nem csupán hőhatás, hanem ma még kevésbé ismert inaktivációs tényezők bonyolult összehatása folytán állhat elő.

6. *Szubsztratkonzentráció*: A kísérletek bizonyossága szerint az a szubsztrát-konzentráció, amely pl. a vizsgálati anyag (talaj + puffer ÷ nád-

cukoroldat) gyakori összerázása nélkül a maximális hidrolízis kifejtéséhez elegendőnek bizonyult, már csekélynek mutatkozott, ha az inkubációs idő alatt többszöri felkeverést alkalmaztak [56].

A bontandó szubsztrátum felhalmozódása a természetes talajokban hatalmas indukálója a mikroszervezetek anyagcseréjében végbemenő változásoknak. A mikroszervezetek protoplazmájában kialakuló enzimszintézis és a környező talajban felhalmozódott specifikus szubsztrátumok közötti összefüggések — melyek egyébként egész talajéletközösségek adaptációs képességeire utalhatnak — a talajenzimológia jövőbeni kutatásai révén várnak felderítésre. Ma még adataink erre nézve alig vannak.

7. *Az idő*: Az enzimaktivitás kimutatásánál az inkubációs idő helyes megválasztása igen fontos körülmény. Kroll [35] a szaharáz meghatározásoknál azt tapasztalta, hogy 24 órás inkubáció elegendőnek bizonyult mivel ezen időn belül minden talajféléseknél a reakció kvantitatíve lejátszódik. 24 órás expozíciós idővel dolgozott korábban Kuprevics is a már említett egész sor enzimmel kapcsolatban.

A talajenzimek felhalmozódása nem csupán térbelileg egyenetlen s ennek révén felhasználható különböző talajok összehasonlítására, hanem időben végbemenő folyamat s a talajéletközösségek anyagcseréjében a lebontó folyamatok alkalmával bekövetkező változásokat tükrözheti vissza. Ezen megállapításokra utalnak Scheffer és Twachtman kísérletei [54], akik egyrészt a bontási folyamatok menete és az enzimaktivitás emelkedése között, másrészt az ureáz és szaharáz enzimek aktivitás változásaiban mutattak ki összefüggéseket (lásd később).

8. *A talajtípus*: A különböző talajtípusok a mikrobiális és a növényi életnek nyújtott változatos lehetőségekkel az enzimaktivitás szempontjából is jelentősen különbözhetnek. Elsősorban a mikrobaszámban gazdag talajok lehetnek magas enzimaktivitásúak. Kuprevics megállapításai szerint az általa vizsgált talajok esetében [38] az enzimaktivitásban mutatkozó legnagyobb eltéréseket a mikroorganizmusok eltérő mennyiségi és minőségi viszonyai indukálták. Így a televényben bő, különösen gazdag kerti talaj magas aktivitással tartalmaz katalázt, invertázt, ureázt. Hofmann [21] pontos adatokat közöl a különböző mélységekből gyűjtött talajminták csíratartalmára és enzimaktivitására vonatkozóan. A kettő között egyenes összefüggés áll fenn. Nemrég Kuprevics [39] a moszkvai talajbiológiai konferencián tett hozzászólásában közölte, hogy a felszíni és a mélyenfekvő (30 cm) talajrétegek kataláz aktivitásában különbségeket észlelt (3,5, ill. 0,95 cm³ 0,3 perc alatt 1 g talajra) szolonesák talajok esetében (Dél-nyugat-Turkmenia).

Legutóbb M a s t a k o v és munkatársainak [41/a] vizsgálataiból az derült ki, hogy a tözege és minerális talajok enzimatisztlásában lényeges különbségek voltak. A tözege talajban úgy a baktérium szám, mint a kataláz, invertáz enzimek aktivitása, továbbá a CO_2 produkció egyaránt magasabb volt, fordított volt a viszony, ha a kapott adatokat csupán a kérdéses anyagok organikus anyag-tartalmához viszonyították.

Azonban mindazok a megállapítások, amelyek az enzimeknek a talajok adszorpciós komplexumában történő felhalmozódására és akkumulálódására vonatkoznak, arra készítetnek, hogy mielőtt a különböző talajtípusok enzimaktivitás adatait összehasonlítanánk, különös tekintettel legyünk az illető talajok fizikokémiai viszonyaira. A kolloidokban gazdag agyagtalajok adatait nem hasonlíthatjuk össze a homoktalajokkal. Így magas széndioxid-produkciót tanúsító, tehát mikrobiológiailag aktív talajok alacsony enzimatisztlás aktivitásuk lehetnek. Bizonyítják ezt a kísérletek [54]: Miacénahomok CO_2 produkciója (CO_2 mg/6 nap/100 g talaj) istálló-trágyázás esetén 49,7, ugyanakkor a szaharáz aktivitás 0,8. Párhuzamosan végzett kísérleteknél kavicsos talaj (Schotterboden) CO_2 produkciója 39,5, míg szaharáz aktivitása 6,1, vályogtalajnál az első 32,6 a második 6,5 volt. Hasonló különbségek tükröződtek vissza a különböző műtrágyákkal történő kombinációk esetén is. Természetesen ez nem jelenti azt, hogy a vályog és agyagtalajok enzimatisztlása mindég magasabb, mint ismeretes ezek mikrobiális aktivitását számos tényező befolyásolhatja.

Ha meggondoljuk, hogy az általunk kimutatható enzimatisztlás aktivitás mértékét, eltekintve igen sok tényezőtől, már a talaj adszorpciós viszonyai is ilyen mélyrehatóan befolyásolhatják, úgy mindazokat a megállapításokat, melyek az enzimatisztlás és a talaj termőereje közötti szoros összefüggésekre utalnak, alaposabb megfontolás tárgyává kell tennünk.

9. *A szerves trágyázás* : Az enzimatisztlásra a talaj szerves anyagokban való gazdagsága a mikrobiális élet fellendítésén keresztül hathat. Hogy a fermentáció maguk, felszabadulva a sejt pusztulása után, a protoplazma evolucionalisan kialakult koordinációja alól, miként tevékenykedhetnek a szerves anyagok megbontásában és átalakításában, arra nézve még igen keveset tudunk. U h t o m s z k a j a [57] a talaj »öntisztulásának« közegészségügyi problémájával foglalkozva nagy szerepet tulajdonít a talajba került szennyananyagok bomlásánál észlelhető enzimatisztlási folyamatoknak. Megállapítása szerint a szennyananyagoknak a talajba történő bevitelénél, ezen nagymennyiségű szerves anyagot a rájuk ható magas ferment koncentráció kíséri, s ezek aktivitása a szervesanyag mennyiségének csökkenésével fokozatosan alábbszáll.

Így pl. az amiláz tartalom az odahordott szervesanyag mennyiséggel arányosan nő, majd ismét csökken. Hasonló összefüggéseket mutatott ki invertáz, kataláz stb. esetében is. U h t o m s z k a j a elgondolásai szerint a fermentatív aktivitásnak és a szervesanyag bomlása mértékének összefüggése lehetővé teszi, hogy a talajok egészségügyi elemzésénél az eddig alkalmazott fizikokémiai, bakteriológiai, helminthológiai stb. vizsgálatok mellett, talajenzimológiai vizsgálatokat is végezzenek, melyek eredményei értékesek lehetnek az »öntisztulás« mértékének és lehetőségeinek megítélésénél.

Érdekes eredményhez vezettek azok a kísérletek (edényekben), melyeket organikus anyagoknak a talaj enzimatartalmára gyakorolt hatásának megállapítására indítottak [54]. A következő szerves anyagokat alkalmazták : 1. Szalmaliszt (C/N-viszony 203 : 1). 2. Lucernaliszt (C/N-viszony 12,3 : 1). 3. Hydrochinon-ammóniák-huminsav (C/N-viszony 8,3 : 1). Az eredmények szerint a nehezen bontható organikus anyagok C/N-viszonya és a talaj szaharáz és ureáz hatása között vonatkozásokat biztonságosan megállapítani nem lehetett. A talajok enzimatartalmát az organikus anyagok könnyen megbontható alkatelemei és a nitrogén hozzáférhetősége határozza meg. Igen érdekesek azok a megfigyelések, miszerint a szalma és lucernaliszt kombinációjával történt trágyázás esetén az ureáz mennyiség először jobban megemelkedett, mint a szaharáz, azonban a kezdeti erős emelkedés után ismét csökkent. Ez a tény a mikroszervezeteknek a könnyen bontható nitrogéntartalmú vegyületek irányába történő kezdeti fokozott orientációjára utal. Ezután az ureáz-tartalom egy meghatározott névára áll be.

10. *Műtrágyázás* : A helyesen alkalmazott műtrágyázásnak a talajéletre gyakorolt kedvező hatása az enzimatisztlás emelkedésében is megmutatkozik. Ez a hatás vagy közvetlenül a mikrobaszám megemelésével vagy közvetve a bontható növényi anyagok gyarapodásával áll párhuzamban. Igen tanulságosak azok a szaharáz aktivitás adatok, melyeket 15 éve folyó különböző kombinációban végrehajtott trágyázási kísérletek után kaptak [56]. Így P K + CaCN_2 esetében az aktivitás 7,7, míg a talaj pH értéke : 6,6 volt. P K + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ esetén az aktivitás : 6,0, pH : 6,1. P K esetén az aktivitás : 7,0, a pH : 6,4. Kizárólagos istálló trágyázásnál az aktivitás : 7,7, a pH : 6,6. A P K + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + CaCO_3 — mellett az aktivitás : 8,0, a pH : 6,4. Vagyis a P K + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + CaCO_3 felhasználásánál a kedvező hatás visszatükröződik a szaharáz aktivitás mértékében is, míg a P K + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ rendszeres adagolásának előnytelen voltát az enzim-módszerrel is ki lehetett mutatni.

11. *Egyéb faktorok* : A talajenzimek felhalmozódását és bakteriális szintézisét a szabadtermészetben működő legkülönbözőbb tényezők

oly bonyolult kölcsönhatása befolyásolja, hogy ezek felderítésére ezen fiatal tudományágnak még sok tanulmányra lesz szüksége.

Kuprevics [38] idézett munkájában megjegyzi, hogy Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumokra egyaránt ható stabil karakterű antibiotikumok jelenléte nem gátolta meg a talajminták ferment aktivitását. Meg kell jegyeznünk, hogy antibiotikus hatásoknak a talajenzimek természetes körülmények között gyakran ki lehetnek téve.

A vizsgálati talajmintákat a szobahőmérsékleten történő szárításnál a napsugárzástól is védeni kell. Még nincs felderítve, hogy a különböző talajok eltérő fizikokémiai viszonyai mennyiben nyújtanak védelmet a kolloidális komplexumban adszorbeálódott talajenzimeknek a sugárhatásokkal szemben.

Magának a szubsztrátumnak az állapota is lényegesen befolyásolhatja az enzimaktivitást. Jackman és Black [27] szerint a különböző inozitfoszfátok rosszul oldódó vegyületeket alkotnak vassal, alumíniummal, magnéziummal és kalciummal, melyeknek a megfelelő foszfátvegyületeknél az oldhatóságuk kisebb. A talajfitatók ilyen okokra visszavezethető kismérvű oldhatóságának tulajdonítják, hogy a fitáthoz kötött foszfor a talajokban tartósan fennmaradhat. Ugyanis a talajfitáz hidrolitikus tevékenysége függ a fitátok oldhatóságától.

Talajélet és enzimaktivitás

A talajenzimológia eredményeinek talajbiológiai és növénytermesztési értékelésénél feltehetjük a kérdést, mennyiben jelentenek a már elért és várható eredmények haladást és segítséget a talajokban végbemenő bonyolult mikrobiológiai folyamatok megértése és felderítése, továbbá a talajok termőképessége kérdésének szempontjából.

A talajokban a mikroszervezetek fajai és csoportjai a metabiotikus kapcsolatok szakadatlanul változó rendszereibe beilleszkedve valószínűleg meg a mikroökosziszisok tápanyagforgalmát. Jóllehet ez a tápanyagforgalom az egyes mikrobák (individuumok) evolúciónálisan kialakult fermentkészlete révén zajlik le, lehetetlen volna az életközösségek tevékenysége alatt az alkotó tagok enzimeinek összmunkáját érteni. Már az egyes individuumokon belül a plazma enzimaktivitás tevékenységének bonyolult koordinációja is jellegzetesen biológiai (fiziológiai stb.) módszerek segítségével közelíthető meg. Még inkább érvényesek ezen megállapítások a mikrobák egyedei, fajai és csoportjai között kialakuló a biocénótika biológiai módszereivel tanulmányozható kölcsönhatásokra, melyek végeredményben az alapvető enzimaktivitás folyamatokat is regulálják.

Ezek után bizonyos mértékig fontolóra kell vennünk Hoffman [23] azon meg-

nyilatkozásait, miszerint a mikroorganizmusok a talajban végső fokon csak annyiban érdekelnek bennünket, amennyiben átalakításokat hajtanak végre, ezeket pedig enzimeik segítségével teszik, s így végeredményben ezeknek van nagyobb jelentőségük. Enyhén szólva kissé leegyszerűsítette nevezett szerző a talajbiológiai folyamatait. Ez annál is inkább fennáll, mivel ezen végső fokon ható tényezők-ből, vagyis az enzimaktivitásból, a faktorok oly sokasága által meghatározott — ugyancsak végső — eredményre, a talajtermékenységre tett közvetlen következtetéseket [22, stb.].

Vajjon az enzimaktivitás meghatározása ténylegesen érzékenyebb módszere a mikrobiális folyamatok aktivitása kimutatásának, mint az eddig alkalmazottak, pl. a talajlégzés mérése? Válaszoljanak talán a kísérleti adatok: Koepf [30], aki nemrég a talajbiológiai aktivitásának problémáját — részben azon gazdag irodalmi adatokra támaszkodva, melyek még a 30-as években Fehér Dániel tollából láttak napvilágot, részben a saját kísérletei alapján — tette értekezés tárgyává, kitért az enzimaktivitás kérdésére is. A következő kísérleteket végezte: Agyagos homoktalajnál 60 nap leforgása alatt vizsgálta a CO₂-termelést. A minták felét 12 napi keltetés után 100 C°-on 80 percig melegítette, majd a keltetést tovább folytatta. 4, ill. 8 naponként vizsgálta a szaharáz aktivitást. A hőkezelés az adszorbeálódott talajfermentek elpusztítását célozta. Az eredmények szerint a nem melegített talajnál a CO₂ produkció a 0 kiindulási értéktől egyenletesen emelkedett a 60-ik napig, míg ezen idő alatt a szaharáz aktivitás kis ingadozásoktól eltekintve azonosan magas szinten maradt. A parciális sterilizáció után rövid pangás, majd mindvégig igen magas — a kontrollénál nagyobb — CO₂ produkció jelezte a fokozott mikroba tevékenységet. A szaharáz aktivitás a parciális sterilizáció után mindvégig egyenletesen igen alacsony szinten maradt. Ezek a kísérletek azt mutatják, hogy a CO₂ termelés által jelzett valóban magas mikrobiális tevékenységet nem követte párhuzamosan a fokozott enzimaktivitás, továbbá az anyagok megbontása legfőképpen az élő baktériumok és gombasejtek enzimeit révén megy végbe, mivel igen alacsony enzimaktivitás mellett nagyobb mikrobiális tevékenységet lehet kimutatni, mint magas szaharáz tartalom esetén. Azt, hogy az enzimaktivitás és a CO₂-produkció nem állítható párhuzamba már, Seegerer is [56] észlelte. Koepf további kísérletei azt is kimutatták, hogy a CO₂-produkció a talajmikrobák környezeti tényezőktől függő évszakos tevékenységének ingadozását sokkal hűbben visszatükrözi, mint pl. a szaharáz aktivitás. Mindezek a tények erősen meggondolkoztatnak különösen akkor, midőn a talajenzim módszerek tetemes érzékenységét halljuk emlegetni.

Érvként fel lehet még hozni, hogy a talajok enzimaktivitás értékei az időben kevésbé változóak (már amelyik talajnál) s így ezek bármikori meghatározásával megközelíthető képet kaphatunk a biológiai kondícióról. Valóban ez értékelendő szempont is, de vajjon a talaj termékenysége mindig párhuzamos a mikroba aktivitással, amely végeredményben az enzimek felhalmozódás kiinduló alapja? Sajnos a talajbiológia ezt nem tudja megerősíteni. A modern kutatások, amelyek feltárták a mikroszervezetek között uralkodó szimbiotikus és antibiotikus kapcsolatok jelentőségét sok olyan momentumra mutattak rá, melyek nem az átlagos aktivitás, hanem a finom minőségek viszonylatában keresendők. A leghatározottabban ezt F e h é r Talajbiológia c. kézikönyvében fejezi ki: »A talajlélegzésen, talajaink nitrifikáló, ammionifikáló, cellulóze-bontó, N-kötő, katalitikus stb. sajátosságain kívül még a talajban élő mikro- és makroszervezetek mennyiségi és minőségi összetételét, ezek biológiai cselekvő képességét és a talajainkban lefolyó fermentatív és antagoniztikus jelenségeket is fel kell tárnunk akkor, ha talajaink biológiai állapotára és az ezzel összefüggő termőképességre biztos és szabatos felvilágosításokat akarunk nyerni. Csak ezek észszerű, komplex egybevetése alapján jutunk abba a helyzetbe, hogy a talajbiológiai kutatómunka eredményeit a gyakorlati növénytermesztés problémáival közvetlen és termékeny kapcsolatba hozzuk.« [12] Azon biológiai tényezők sokoldalúságára, melyek a talajok termékenységét meghatározzák nemrég K r a s z i l n y i k o v mutatott rá kitérő [36] munkájában.

Mindezt azonban csak a talaj termékenysége és enzimaktivitása közötti »szoros párhuzam« szempontjából kellett megemlíteni. Valójában a talajenzimológia máris igen értékes eredményeket ért el s új szempontokat hozott a talajbiológiába. De jelentőségét nem csupán a talajtermékenység egyszerű és gyors meghatározását célzó módszerek kidolgozásában kell látnunk, hanem azon bonyolult folyamatok megértésénél kell keresnünk, mely a mikrobális autólízis- és ektófermentek [4, 17, 31, 51 stb.], a talajok különféle szervesanyagai, továbbá a humuszanyagok szintézise és a talajstruktúra közötti összefüggésekkel kapcsolatos. A moszkvai talajbiológiai konferencia előadásából és hozzászólásaiból is [29, 32, 41, 52 stb.] lényegében erre lehet következtetni.

SZABÓ ISTVÁN

Irodalom

- [1] Bower, C. A.: Iowa Agr. Exp. Sta. Res. Bul. 362. 1949.
- [2] Bräunlich, K.: Dissertation München, 1952. id. Seegerer 1953.
- [3] Burd, J. S.: Soil Sci. 65. 227. 1948.

- [4] Enders, C.: Biochem. Z. 315. 259. 1943.
- [5] Enikeeva, M. G.: Vlaznoszty pocsvü i mikrobiológiceszkje processzui. Teziszü disszertácii 1948. id. Misusztin 1953.
- [6] Fehér, D.: Arch. Mikrobiol. 4. 447. 1953.
- [7] Fehér, D.: Arch. Mikrobiol. 5. 421. 1934.
- [8] Fehér, D. & Frank, M.: Arch. Mikrobiol. 8. 249. 1937.
- [9] Fehér, D. & Frank, M.: Arch. Mikrobiol. 8. 27. 1937.
- [10] Fehér, D. & Frank, M.: Arch. Mikrobiol. 9. 191. 1938.
- [11] Fehér, D. & Manninger, E.: Annal. Biol. Tihany. 21. 1952.
- [12] Fehér, D.: Talajbiológia. Budapest, 1954.
- [13] Fermi, Cl.: Zbl. Bakteriöl. Par. Inf. 26. 330. 1910.
- [14] Finály, I.: Agrokémia és Talajtan, 2. 81. 1953.
- [15] Fjodorov, M. V.: Trud. konferencii vopr. pocsv. mikrobiol. Moszkva, 1953. 202.
- [16] Gillisen, G.: Zbl. Bakter. I. Ref. 151. 7/9. 1953.
- [17] Harmsen, G. W.: Plant and Soil. 3. 2. 1951.
- [18] Hofmann, E.: Biochem. Z. 275. 320. 1935.
- [19] Hofmann, E. & Seegerer, A.: Biochem. Z. 321. 97. 1950.
- [20] Hofmann, E. & Latzko, E.: Biochem. Z. 320. 269. 1950.
- [21] Hofmann, E. & Seegerer, A.: Biochem. Z. 322. 174. 1951.
- [22] Hofmann, E. & Seegerer, A.: Naturwissenschaften 38. 141. 1951.
- [23] Hofmann, E. Z. PflErnähr. Düng. 56. 68. 1952.
- [24] Hofmann, E. & Schmidt, W.: Biochem. Z. 324. 125. 1953.
- [25] Hofmann, E. & Hofmann, G.: Naturwissenschaften. 40. 511. 1953.
- [25a] Hofmann, E. & Niggeman, I.: Biochem. Z. 324. 308. 1953.
- [25b] Hofmann, E.: Umschau. 53. 181. 1953.
- [25c] Hofmann, E., Wolf, E. & Schmidt, W.: Z. PflBau. PflSchutz. 4. 177. 1953.
- [26] Jacob, A.: Der Boden. Akad. Vrg. Berlin. 1953.
- [27] Jackman, R. H. & Black, C.: Soil. Sci. 72. 179. 1951.
- [28] Jackman, R. H. & Black, C.: Soil. Sci. 73. 117. 1952.
- [29] Kanirec, I. I.: Trud. konferencii po vopr. pocsv. mikrobiol. 206. Moszkva 1953.
- [30] Koepf, H.: Z. PflErnähr. Düng. 64. 138. 1954.
- [31] Kononova, M. M.: Problema pocsvennogo humusza i szovremennüie zadaci ego izocsenija. Izd.-vo AN Sz. Sz. R. 1951.

- [32] *Kononova, M. M.*: Trud. konferencii po vopr. pocsv. mikrobiol. 38. 230. Moszkva, 1953.
- [33] *König, J., Koppenrath, E. & Hasenbäumer, K.*: Landw. Versuchsstation, **66**. 401. 1907.
- [34] *König, J.*: Untersuchung Landw. und gewerbl. wichtiger Stoffe. I. Berlin. 1923.
- [35] *Kroll, L.*: Agrokémia és Talajtan, **2**. 301. 1953.
- [36] *Kraszilnyikov, N.*: Izv. A. N. Sz. Sz. Sz. R. Biol. (2) **14**. 1954.
- [37] *Kuprevics, V. F.*: Dokl. Akad. Nauk Sz. Sz. R. **68**. (5) 953. 1949.
- [38] *Kuprevics, V. F.*: Dokl. Akad. Nauk Sz. Sz. R. **79**. (5) 863. 1951.
- [39] *Kuprevics, V. F.*: Trud. konferencii po vopr. pocsv. mikrobiol. 124. Moszkva. 1953.
- [40] *Kurszanov, A. L., Dzsemuhadze, K. & Zaprometov, M.*: Biochimija, **12**. (5) 1947.
- [41] *Lejn, Ja. Z.*: Trud. konferencii po vopr. pocsv. mikrobiol. 214. Moszkva, 1953.
- [41a] *Mastakor, Sz. M., Kulakovszkaja, T. N. & Goljdina, Sz. M.*: Dokl. A. N. Sz. Sz. Sz. R. **98**. (1) 141. 1954.
- [42] *Messzineva, M. A.*: Bjull. Moszk. ob-va iszp. prirodü, otd. biol. **49**. 195. 1940.
- [43] *Misusztin, E. P. & Podjapolszkaja, O. P.*: Mikrobiológija. **7**. (2) 198. 1938.
- [44] *Misusztin, E. N.*: Ekológó -geograficseszskaja izmencsivoszty pocsvennüh bakterij, Izd-vo AN Sz. Sz. Sz. R. 1947.
- [45] *Misusztin, E. N.*: Trud. konferencii po vopr. pocsv. mikrobiol. 7. Moszkva, 1953.
- [45a] *Misusztin, E. N.*: Priroda. **10**. 24. 1953.
- [46] *Misusztin, E. N.*: Uszpehi Szovr. **37**. 1. 1954.
- [47] *Mortland, M. M. & Gieseking, J. E.*: Proc. Soil. Soc. Amer. **16**. 10. 1952.
- [48] *Rippel-Baldes, A.*: Handbuch der Bodenlehre (Szerk: Blanck) VIII. J. Springer. Berlin. 1931.
- [49] *Rippel-Baldes, A.*: Handbuch der Bodenlehre. (Szerk. Blauk) I. kiegészítő kötet. J. Springer. Berlin, 1939.
- [50] *Rippel-Baldes, A.*: Vorlesungen über Boden-Mikrobiologie. J. Springer. Berlin, 1933.
- [51] *Rudakov, K. I.*: Mikrobiológija. **20**. 348. 1951.
- [52] *Rudakov, K. I.*: Trud. konferencii po vopr. pocsv. mikrobiol. 54, 227. Moszkva, 1953.
- [53] *Scharrer, K.*: Landw. Vers. Stat. **107**. 143. 1928.
- [54] *Scheffer, F. & Twachtmann, R.*: Z. PflErnähr. Düng. **62**. 158. 1953.
- [55] *Seegerer, A.*: Diss. München, T. H. 1951. id. Seegerer 1953.
- [56] *Seegerer, A.*: Z. PflErnähr. Düng. **61**. 251. 1953.
- [57] *Uhtomskaja, F. I.*: Gigena i szanitarija, **11**. 46. 1952. Dok. Közp. ford. 1952.
- [58] *Filjamsz, V. R.*: Talajtan. Akad. Kiadó. Budapest, 1950.
- [59] *Velasco, J. R.*: Anales Real. Soc. Espa. Fis. Quim. **45**. B. 821. 1949. id. Kroll 1953.
- [60] *Wachtel, P.*: Die Wasserstoffperoxyd-katalase durch Boden. Diss. Jena, 1912.